

Über das Wachstum  
von Kiefernssämlingen aus röntgen-  
bestrahltem Samen

*Utveckling av fröplantor uppkomna från röntgen-  
bestrålat tallfrö*

von

BOLESŁAW SUSZKA, KIHACHIRO OHBA  
und MILAN SIMAK

MEDDELANDEN FRÅN  
STATENS SKOGSFORSKNINGSINSTITUT  
BAND 49 • NR 9



## Einleitung

Die meisten experimentellen Arbeiten auf dem Gebiete der Radiobiologie gelten Pflanzenarten, die für Landwirtschaft und Gartenbau von Bedeutung sind. Die Zahl solcher Arbeiten im Rahmen der Forstgenetik, ist trotz der Bedeutung der Forstpflanzenzüchtung für die künftige Entwicklung der Forstwirtschaft äusserst gering (GUSTAFSSON 1960). Eine allgemeine Applizierung der radiobiologischen Ergebnisse von landwirtschaftlichem Material auf forstliche Pflanzen ist nicht möglich. Die Waldbäume — besonders die Nadelhölzer — weichen biologisch oft von landwirtschaftlichen Pflanzen ab, was zur Folge haben kann, dass beide Pflanzengruppen bei radiobiologischen Versuchen sehr unterschiedlich reagieren. Es lässt sich daher nicht umgehen, die mit Landwirtschaftspflanzen durchgeführten Versuche mit forstlichem Material zu wiederholen, ehe allgemeine Schlüsse gezogen werden können.

In der vorliegenden Arbeit wurden Kiefersamen röntgenbestrahlt und der Bestrahlungseffekt untersucht:

- a. auf das Wachstum der Keimlinge
- b. auf die mitotischen Zellteilungen in den Wurzelspitzen der Keimlinge.

Die Arbeit wurde an der genetischen Abteilung der Forstlichen Forschungsanstalt in Stockholm durchgeführt. Boleslaw Suszka<sup>1</sup> und Kihachiro Ohba<sup>2</sup> waren als Gastforscher an der Abteilung tätig.

## Material und Methodik

Material: Der Samen stammt vom Baum A 1—2 aus einem ungleichaltrigen Kiefer-Fichte-Bestand in Bogesund (59°23' nördl. Breite, 18° 11' östl. Länge, 20 m Meereshöhe). Der Baum ist 66 Jahre alt, 16,5 m hoch, mit einem Brusthöhendurchmesser von 36,5 cm. Die Zapfen wurden Anfang Februar 1960 gewonnen und sofort geklenget. Die Einteilung des Samens in Embryoklassen nach der Röntgenmethode (SIMAK und GUSTAFSSON 1954) ergab folgende Werte:

Taubesamen	Embryoklasse				Abnorme Samen
	I	II	III	IV	
24,5 %	0	0	3,5 %	71,5 %	$\frac{1}{0,5 \%}$

<sup>1</sup> Zakład Dendrologii i Pomologii P.A.N. Kórnik k/Poznań, Polen.

<sup>2</sup> Government Forest Experiment Station, Ministry of Agriculture and Forestry, Meguro, Tokyo, Japan.

Zwillingsembryonen wurden in Klasse III (1,0 %) und IV (2,0 %) gefunden. Zum Versuch wurden ausschliesslich gut entwickelte Samen — Embryoklasse IV — verwendet. Diese Samen wurden einzeln gewogen, wobei Samen mit einem Einzelkorngewicht unter 0.003 g und über 0.005 g ausgeschieden wurden.

*Äquilibration:* Der Samen wurde 7 Tage bei 22° C in einem Luftstrom von 40 % rel. Luftfeuchtigkeit vorbehandelt (EHRENBERG 1955).

*Röntgenbestrahlung:* Unmittelbar nach der Äquilibration wurde der Samen mit folgenden Röntgendosen resp. Zeiten bestrahlt:

1. Kontrolle (unbestrahlt)
2. 600 r 24 min 21 sek
3. 1 200 r 48 min 42 sek
4. 2 400 r 97 min 24 sek
5. 3 600 r 146 min 06 sek
6. 4 800 r 194 min 48 sek

Es wurden also 24,3 r/min verabreicht bei 150 kV, 10 mA, Focus 50 cm, Filter 0,5 mm Cu + 1,0 mm Al.

Die Bestrahlungsdosen sind mit einem automatischen Dosimeter (Duplex-Dosimeter) kontrolliert worden.

*Vorkeimung:* Sogleich nach der Bestrahlung wurden die Samen in Petrischalen auf feuchtem Filtrierpapier bei 24° C vorgekeimt. Die für den eigentlichen Versuch vorgesehene Samenmenge wurde auf 60 Samen je Bestrahlungsdosis festgelegt. Da bei steigender Bestrahlungsdosis von vornherein eine Verminderung des Keimprozentes zu erwarten war (GUSTAFSSON und SIMAK 1958), wurden für die höheren Röntgenserien grössere Samenportionen vorgekeimt.

Diese Sicherheitsmassnahme erwies sich aber als nicht ausreichend, bei den höchsten Serien musste daher mit weniger Samen im Versuch gearbeitet werden.

Serie	Anzahl eingelegte Samen	im Versuch verwendete angekeimte Samen
Kontrolle	70	60
600 r	80	60
1 200 r	80	60
2 400 r	100	58
3 600 r	150	45
4 800 r	150	29

In den Serien 2 400 r, 3 600 r und 4 800 r wurden sämtliche angekeimten Samen verwendet.

*Die Keimvorrichtung:* Die vorgekeimten Samen wurden in Keimkammern von 20 cm Breite und 12 cm Höhe eingelegt (Bild 1). Diese Keimkammern bestanden aus einer 1,5 cm dicken Schaumplastplatte auf die Filtrierpapier und — als Messkala — Millimeterpapier aufgelegt war. 20 Fächer von 1,5 mm

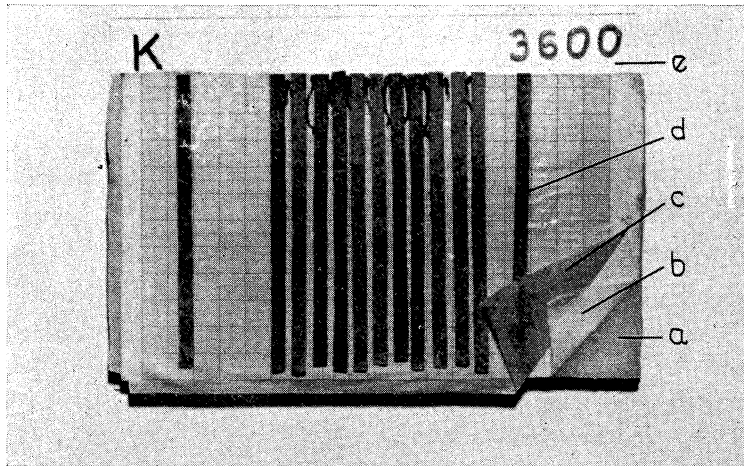


Bild 1. Keimkammer.

a) Schaumplastplatte. b) Filtrierpapier. c) Messkala — Millimeterpapier. d) Pappstreifen. e) Glasscheibe.

Breite wurden durch eine Reihe von 5 mm breiten Pappstreifen gebildet. In diesen Fächern konnte die Längenentwicklung der Keimlinge direkt abgelesen werden. Zwei Glasscheiben und Gummibänder hielten das Ganze zusammen. Die insgesamt 18 Kammern standen in einer Stahlwanne, deren Wasserspiegel dem Längenwachstum der Keimlinge entsprechend geregelt wurde. Die Wassertemperatur schwankte zwischen 22 und 24° C. Die Schaumplastplatte, Filtrierpapier und Pappstreifen gewährleisteten eine ständige und gute Wasserversorgung. Die Keimgeräte wurden ganztägig beleuchtet, wobei die Tageslichtröhren in Kammerhöhe 1 000 Lux gaben; die Wurzeln wurden nicht abgeschildert.

*Die Messungen:* Die Länge der Keimpflanzen wurde täglich gemessen. Da die exakte Feststellung der Grenze zwischen Wurzel und Hypokotyl schwierig war, wurde anfangs die Entfernung Samenschale—Wurzelspitze, später, nach dem Erscheinen der Kotyledonen, die Entfernung Kotyledonenansatzstelle—Wurzelspitze mit einer Genauigkeit von einem Millimeter gemessen. Der Tag, an dem die Kotyledonen sichtbar wurden, ist für jede Keimpflanze vermerkt worden.

*Die Feststellung mitotischer Störungen:* Vierzehn Tage nach der Bestrahlung der Samen — nach Abschluss der Wachstumsuntersuchung und um die restierenden Röntgenstörungen nach einer gewissen Regenerationszeit untersuchen zu können — wurden von jeder Serie 15—18 Wurzelspitzen für die zytologischen Untersuchungen ausgewählt, in Carnoy (3 abs. Alkohol; 1 acet. acid; 1 Chloroform) fixiert und mit Feulgen gefärbt. An Quetschpräparaten wurden dann die sich teilenden Zellen ausgezählt — normale und anomale Teilungen ausgesondert und prozentuell erfasst. Folgende Teilungsstörungen wurden klassifiziert:

in der Anaphase:

1. Chromosomenfragmente
2. Chromosomenbrücken
3. Chromosomenfragmente und Brücken

in der Metaphase:

1. Chromosomenfragmente

*Das Wachstum der Keimlinge:* Die Wirkung der Bestrahlung wurde an folgenden Eigenschaften untersucht:

- a. Gesamtlänge (Wurzel + Hypokotyl)
- b. Täglicher Gesamtlängenzuwachs
- c. Die Streuung der Gesamtlänge in dem Augenblick, in dem die Kotyledonen sichtbar wurden.

Innerhalb der Bestrahlungsserien keimten die Samen an verschiedenen Tagen, ausserdem stieg die Keimungsverzögerung mit der Grösse der Röntgendose. Um diese Unterschiede korrekt zu erfassen, müsste man ein viel grösseres Material untersuchen, als hier zur Verfügung stand. Es erschien angebracht, das Wachstum der Keimlinge in relativen Werten darzustellen, für alle Samen wurde also ein gemeinsamer Keimtag (O-Tag) angenommen, d.h. in dieser Arbeit ist nicht der Tag an dem die Samen zur Vorkeimung gebracht wurden als Anfang gesetzt, sondern der Tag, an dem die verschiedenen Samen wirklich zu keimen begannen.

*Die Gesamtlänge der Keimpflanzen:* (Bild 2) Vom ersten Keimtage an machte sich eine Differenzierung der Gesamtlängenmittelwerte bemerkbar. Bei 600 r unterscheiden sich die Mittelwerte kaum von den Werten der unbestrahlten Keimlinge, bei den anderen Bestrahlungsdosen jedoch sind die Unterschiede sehr deutlich. Die Wachstumsstörungen steigen mit der Grösse der Bestrahlungsdosis. Die Streuung der einzelnen Längenwerte innerhalb der verschiedenen Serien ist recht beträchtlich (Bild 3).

*Der tägliche Längenzuwachs:* Auch der tägliche Längenzuwachs ist von der Bestrahlungsdosis abhängig (Bild 4): Die Zuwachskurven der Kontroll- und der 600 r-Serie überschneiden einander mehrmals, die anderen Zuwachskurven weichen aber, je nach Grösse der Röntgendosis, immer stärker von diesen

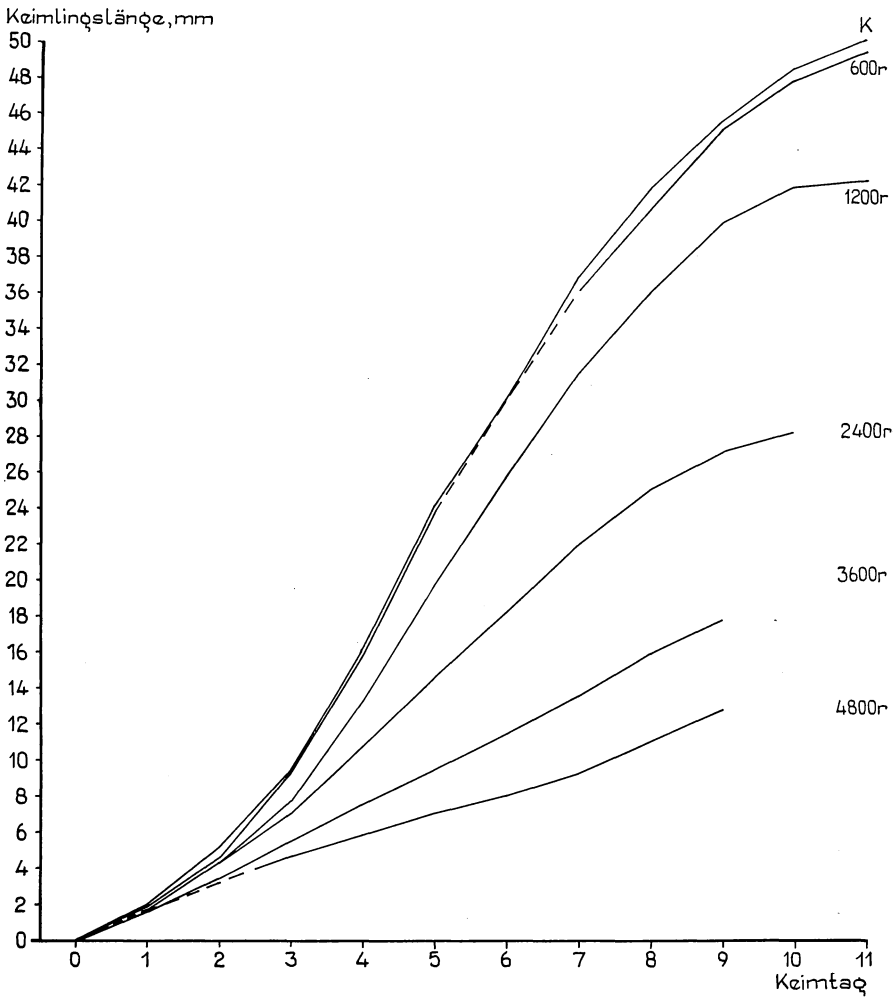


Bild 2. Die Gesamtlänge der Keimpflanzen in den verschiedenen Serien. Die Strichlinien dienen lediglich zur Differenzierung der Kurven.

zwei sich ähnlichen Kurven ab. Kontrolle, 600 r und 1200 r haben ihren maximalen Zuwachs am 5. Keimtag erreicht, bei 2400 r, 3600 r und 4800 r dagegen ist kein Zuwachsmaximum zu erkennen. Diese Zuwachskurven zeigen eine deutliche Abflachung mit zwei mehr oder weniger ausgeprägten Maxima. Bei einzelnen Keimlingen der 4800 r-Serie konnte »ruckweiser« Zuwachs beobachtet werden. Bis zu 4 Tagen konnten diese Keimlinge ruhen um sich plötzlich aufs neue zu strecken; dazu ein Beispiel in Tab. 1.

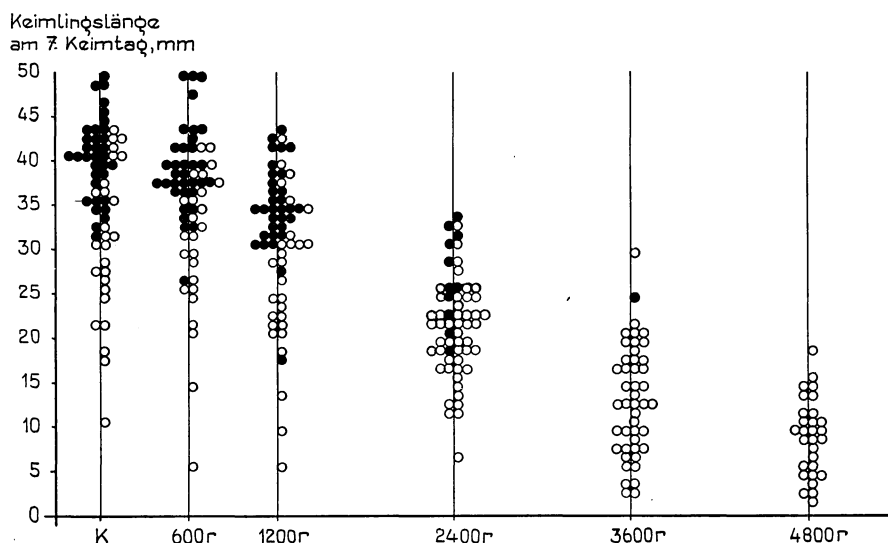


Bild 3. Die Streuung der Keimlingsgröße am 7. Keimtag. Keimlinge mit ●, und ohne ○ sichtbarem Kotyledonenansatz.

Tab. 1. R-dosis 4 800 r. Täglicher Zuwachs in mm.

Keimtag	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Summe
Keimling 1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	3 mm
Keimling 2	0	4	3	4	2	2	2	2	2	1	22 mm

*Die Streuung der Gesamtlängen im Augenblick des Sichtbarwerdens der Kotyledonen:* Die Kotyledonen sind der Teil des Kiefern sämlings, der bei der Keimung am längsten in dem von der Samenschale umgebenen Endosperm verbleibt. Im Versuch wurde der Tag, an dem die Ansatzstelle der Kotyledonen sichtbar wurde, als der Beginn einer neuen Entwicklungsphase aufgefasst. Die Kurven des Kotyledonen-Erscheinens (Bild 5) lassen nur einen geringen Unterschied zwischen Kontrolle und 600 r erkennen — die anderen Serien weichen mit zunehmender Dosis immer mehr von der Kontrollkurve ab. Die Kontrollserie hat ein Maximum an sichtbaren Kotyledonen am 8—9. Tag — die 600 r-Serie am 10. Tag und 1 200 r am 11. Die 2 400 r-Serie zeigt ein deutliches, die 3 600 r-Serie sogar ein sehr scharf ausgeprägtes Absinken von Keimlingen mit sichtbaren Kotyledonen. Weiterhin tritt bei 2 400 und 3 600 r eine Verzögerung des Erscheinens der Kotyledonen um einen Tag ein. Die 4 800 r-Bestrahlung hatte zur Folge, dass bis zum letzten Keimtage des Versuches noch keine Kotyledonen sichtbar waren.



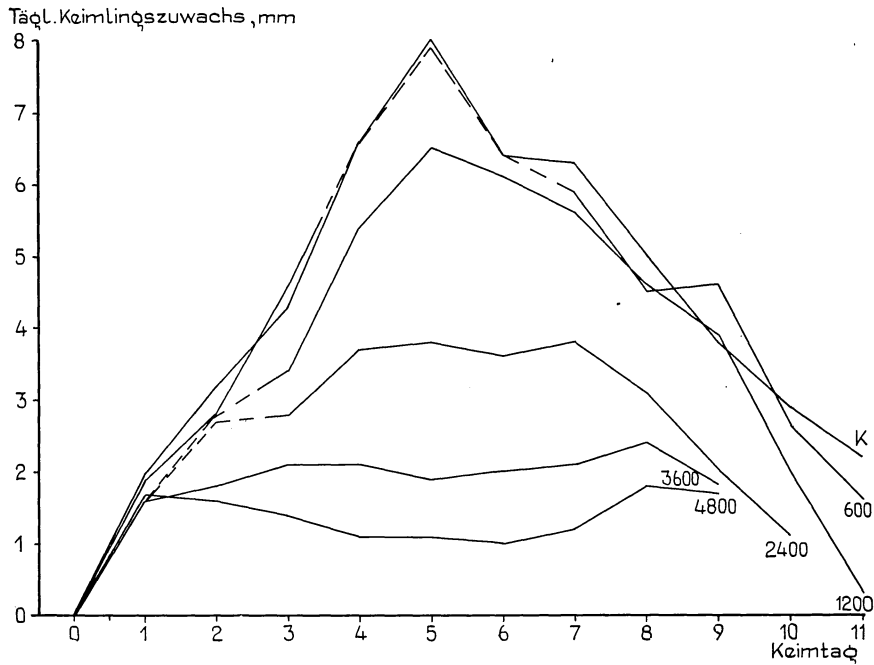


Bild 4. Der tägliche Gesamtlängezuwachs. Die Strichlinien dienen lediglich zur Differenzierung der Kurven.

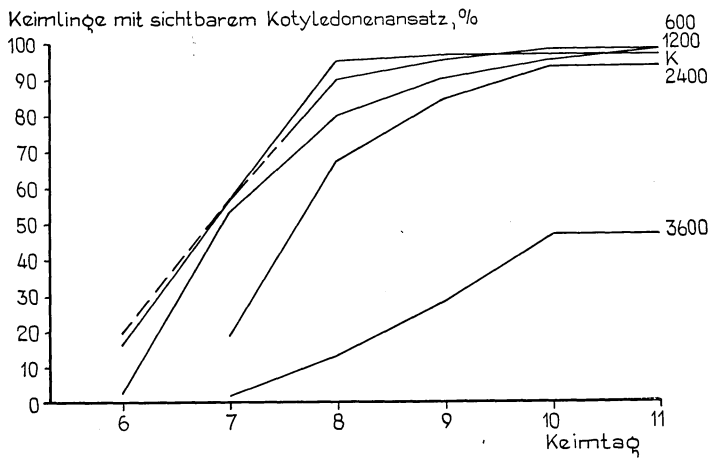


Bild 5. Die prozentuelle Verteilung von Keimlingen mit und ohne sichtbarem Kotyledonenansatz. Die Strichlinien dienen lediglich zur Differenzierung der Kurven.

In Bild 3 — die Streuung der Länge aller Keimpflanzen am 7. Keimtag — sind die Keimlinge mit sichtbarem Kotyledonenansatz durch volle Kreise gekennzeichnet.

*Die mitotischen Teilungsstörungen:* Wie aus Tab. 2 hervorgeht, lassen sich für die Ana- und Metaphasen zwei entgegengesetzte Tendenzen beobachten: Mit steigender Röntgendosis nahm die Anzahl der Anaphasen zu — die der Metaphasen dagegen ab. Eine weitere Folge der Röntgenbestrahlung zeigt sich in der raschen Zunahme mitotischer Teilungsstörungen mit steigender

Tab. 2 Mitotische Störungen in Wurzelspitzen.

Bestrahlungsdosis	Zahl der untersuchten Wurzelspitzen	Zahl der Zellteilungen insgesamt	Anaphase				Metaphase		Teilungsstörungen insgesamt <sup>1</sup> %
			Teilungen insgesamt %	Fragmente %	Brücken %	Fragmente und Brücken %	Teilungen insgesamt %	Fragmente %	
Kontrolle (unbestrahlt)	16	195	28,2	2,6	0	0	71,8	3,1	5,7
600 r	15	149	34,9	2,0	0	0	65,1	6,7	8,7
1 200 r	15	276	38,0	2,2	0,4	0	62,0	9,1	11,7
2 400 r	15	336	36,0	2,7	0,6	0	64,0	9,8	13,1
3 600 r	15	275	38,5	6,9	1,5	0	61,5	8,7	17,1
4 800 r	18	60	45,0	6,7	8,3	5,0	55,0	10,0	30,0

<sup>1</sup> Ein Teil dieser Störungen ist auf die Herstellung der Präparate zurückzuführen, s. S. 11.



Bild 6. Normale Zellteilung in der Anaphase. Kontrolle, unbestrahlt.



Bild 7. Anomale Zellteilung mit Chromosomenbrücken in der Anaphase. Bestrahlungsdosis: 4800 r.

Dosis. Von 5,7 % in der Kontrollserie stieg die Frequenz der Störungen bis zu 30 % in der 4 800 r-Serie. Die in der Kontrollserie festgestellten 5,7 % müssen als eine Folge der Herstellung der Quetschpräparate angesehen werden. Es ist zu beachten, dass in der Kontrollserie weder Chromosomenbrücken noch Micronuclei gefunden wurden. Solche Störungen traten — mit Ausnahme der 600 r-Serie — um so häufiger auf, je grösser die Röntgendosis war.

Nur bei 1 200 r und 2 400 r liessen sich Wurzelspitzen ohne Teilungen finden (Tab. 3). Wurzelspitzen mit ausschliesslich normalen und auch solche mit ausschliesslich gestörten Teilungen liessen sich in allen Serien finden. Natürlich muss man auch in den höheren Röntgenserien mit einem Teil artifizieller Fragmente rechnen.

Der Anteil gestörter Zellteilungen in den einzelnen Wurzelspitzen schwankte bei der Kontrollserie und den Röntgendosen bis zu 2 400 r zwischen 0 und 20—29 %, bei 3 600 r zwischen 0 und 75 % und bei 4 800 r waren in einigen Wurzelspitzen sämtliche Zellteilungen anomal.

Tab. 3. Die Frequenz mitotischer Störungen in Wurzelspitzen.

Bestrahlungsdosis	Zahl der untersuchten Wurzelspitzen	Wurzelspitzen ohne Teilungen	Wurzelspitzen mit nur normalen Teilungen	Wurzelspitzen mit gestörten Teilungen	Variation des Prozentes gestörter Zellteilungen in einzelnen Wurzelspitzen <sup>1</sup>
Kontrolle (unbestrahlt)	16	3	7	6	0—25 %
600 r	15	4	5	6	0—29 %
1 200 r	15	—	3	12	0—20 %
2 400 r	15	—	3	12	0—26 %
3 600 r	15	1	1	13	0—75 %
4 800 r	18	6	6	6	0—100 %

<sup>1</sup> Ein Teil dieser Störungen ist auf die Herstellung der Präparate zurückzuführen, s. S. 11.

## Diskussion

Die Untersuchung galt dem Wachstum von Kiefernkeimlingen aus röntgenbestrahltem Samen. Es wurde dabei grösstmögliche Standardisierung angestrebt: So wurden nur Samen eines Baumes (SIMAK u.a. nicht veröff.), Samen gleicher embryonaler Entwicklung (GUSTAFSSON und SIMAK 1958), Samen mit gleichem Wassergehalt (GUSTAFSSON und SIMAK 1958) und Samen einer gewissen Gewichtsklasse (FRÖIER und GUSTAFSSON 1944, SIMAK u.a. nicht veröff.), verwendet. Die Bedeutung dieser Faktoren wird in den angeführten

Arbeiten diskutiert. Das Keimungsprozent und die Keimungsgeschwindigkeit der verschiedenen Bestrahlungsserien soll hier ausseracht gelassen werden — das Material ist für eine derartige Untersuchung viel zu klein. Als Ausgangspunkt wurde der wirkliche (O) Keimtag der einzelnen Samen gewählt. Die Betrachtung soll sich also auf folgende Punkte beschränken:

1. Unterschiede im Wachstum der Kiefernkeimlinge in den verschiedenen Bestrahlungsserien;
2. Unterschiede im Wachstum der Keimlinge innerhalb der Bestrahlungsserien;
3. Mitotische Störungen in Wurzelspitzen nach verschiedenen Bestrahlungsdosen.

#### **1. Unterschiede im Wachstum der Kiefernkeimlinge in den verschiedenen Bestrahlungsserien.**

Das Wachstum der Keimlinge ist in Bild 2 und 4 dargestellt. Die Unterschiede im totalen und im täglichen Längenzuwachs sind sehr deutlich. Mit zunehmender Röntgendosis tritt eine Hemmung des Wachstums ein. Auch bei der schwächsten Röntgendosis wurde keine stimulative Wirkung beobachtet, es ist aber nicht ausgeschlossen, dass eine solche bei noch schwächeren Bestrahlungen auftreten kann, sie dürfte allerdings ohne grössere Bedeutung sein (Vgl. SAX 1955, GUSTAFSSON und SIMAK 1958). Die depressive Wirkung der Röntgenbestrahlung drückt sich teils in der Wurzellänge und teils in der Hypokotylllänge, sowie in der Verzögerung des Gesamtlängenwachstums aus. Aus bestrahlten Samen werden stets kleinere Keimlinge erwachsen, zumal die Hypokotylllänge mit dem Erscheinen des Kotyledonenansatzes gegeben ist (Bild 3). Da die Röntgenbestrahlung das Meristem von sowohl Spross als auch Wurzel beschädigt, ist die Minderung des Längenzuwachses der Keimlinge beidseitig (Vgl. EHRENBURG und WETTSTEIN 1955, GUSTAFSSON und SIMAK 1958). Für die stärksten Röntgendosen, vor allem für 4 800 r, scheint es überhaupt fraglich, ob sich die unfertigen Keimlinge je der Samenschale entledigen können. Der bei Abschluss des Versuches sichtbare Wurzelteil dieser Pflanzen war oft abnorm dick und unnatürlich grau, wobei die Wurzelspitze meist verkrümmt war. Der tägliche Wurzelzuwachs der hochbestrahlten Serien war sehr unregelmässig, teilweise sogar aussetzend (Tab. 1). GRAY und READ (1942) sahen eine bestrahlte Wurzelspitze von *Vicia*, die während 4 Tagen keinen Zuwachs gezeigt hatte und braun geworden war, für tot an. In unserem Versuch währte die längste Stagnation des Wurzelwachstums 4 Tage, wonach der Längenzuwachs erneut einsetzte.

## 2. Unterschiede im Wachstum der Kiefernkeimlinge innerhalb der Bestrahlungsreihen.

Die Variation der Keimlingsgröße innerhalb der verschiedenen Reihen wurde für den 7. Keimtag untersucht (Bild 3). Die ausserordentlich starke Streuung ist jedoch nicht der Röntgenbestrahlung zuzuschreiben. Im Kontrollmaterial finden wir nämlich eine ähnliche Variation, von 10 bis 50 mm Gesamtlänge. Diese individuellen Unterschiede können Folgen von physiologischen und evtl. genetischen Faktoren sein.

Eine Röntgenbestrahlung des Samens wirkt gleichsinnig auf das Wachstum der Keimlinge, gleich ob diese von Natur aus schnell- oder langsamwüchsig sind. READ (1959) zieht aus einem Versuch mit *Vicia faba*-Wurzeln verschiedener Wachstumsenergie folgenden Schlusssatz: »We conclude that the growth of roots after irradiation is proportional to the growth which they would have made if not irradiated...«. Ähnliche Erfahrungen haben wir auch an einem anderen Kiefernmaterial gemacht (SIMAK u.a. nicht veröff.).

Wir können daher feststellen, dass Samen mit verschiedener Wachstumsenergie durch eine Röntgenbestrahlung etwa gleich stark beschädigt werden, wobei aber bei hohen Röntgendosen die Schäden an Samen geringer Energie zum Tod führen (schon in Verringerung des Keimprozentes). Dadurch wirkt eine hohe Röntgenbestrahlung scheinbar streuungsmindernd, indem wachstumsstarke Samen gehemmt (bei 4800 r ist die max. Länge 17 mm) und schwache Samen getötet werden.

## 3. Mitotische Störungen in Wurzelspitzen nach verschiedenen Bestrahlungsdosen.

Die mitotischen Teilungsstörungen in den Wurzelspitzen wurden nach Abschluss der Wachstumsuntersuchung — also 14 Tage nach dem Einlegen der Samen zur Keimung — untersucht. Dies geschah, um mit dem gleichen Material arbeiten zu können. Die Frequenz der Störungen ist in diesem Zeitpunkt natürlich geringer als in der ersten Mitose, die in unbestrahlten Samen am etwa dritten Keimtag eintritt, also noch ehe die Wurzel des Keimlings die Samenschale durchbricht. Nach MARSHAK (1937) kulminiert die Frequenz der Chromosomenabnormitäten in den Wurzelspitzen von *Pisum sativum*, *Allium cepa* und *Vicia faba* etwa 2—3 Stunden nach Bestrahlung und Keimungsbeginn. Danach tritt eine langsame Rückkehr zu normalen Teilungen ein. Die Reorganisation der Gewebe röntgenbestrahlter *Vicia*-Wurzeln beginnt etwa 8 Tage nach der Behandlung.

Wenn auch bei den bestrahlten Kiefern Samen etwas andere Verhältnisse vorliegen können, muss man annehmen, dass die Wurzelspitzen nach dem 14-tägigen Wachstum wenigstens zum Teil restauriert sind. Es lässt sich aber doch

in diesem relativ späten Zeitpunkt feststellen, dass die Zahl der Chromosomenabnormitäten mit steigender Röntgendosis zunimmt — von 5,7 % in der Kontrollserie bis zu 30 % in der 4 800 r-Serie.

Die 5,7 % abnormer Teilungen in der Kontrollserie scheinen lediglich eine Folge der Quetschung bei der Herstellung der Präparate zu sein. Eine mechanische Beschädigung ist nämlich bei den Chromosomen der Kiefer sehr leicht möglich, da die Chromosomen — wie im allgemeinen bei Coniferen — sehr lang sind. Auch sind Quetschpräparate von den relativ harten Wurzelspitzen der Kiefernkeimlinge nur sehr schwierig herzustellen — die Quetschung muss ziemlich hart sein, um ein gutes Bild für die Auszählung der Zellteilungen zu erhalten. Dabei kann leicht eine artifizielle Fragmentation der Chromosomen eintreten. Auch das Fehlen von Chromosomenbrücken und Micronuclei in der Kontrollserie weist auf künstliche Fragmente hin.

Schliesslich wurden bei einem anderen Versuch mit dem gleichen Samenmaterial keine abnormen Zellteilungen gefunden (SIMAK u.a. nicht veröff.). In diesem Fall wurden die Quetschpräparate von weichen Embryonen gemacht, die nach 72-stündiger Vorkeimung aus den Samen herauspräpariert wurden.

Die Bestrahlungsserie 600 r unterscheidet sich in der Zahl der Chromosomenabnormitäten nicht wesentlich von der Kontrollserie. Erst in der 2 400 r-Serie wurden 0—4 % Chromosomenbrücken und auch Micronuclei konstatiert. Der Unterschied zwischen Kontrolle und 600 r-Serie wird bei dem Vergleich der Relation Anaphase: Metaphase deutlich. Für die Kontrollserie findet man 28,2:71,8 — für 600 r 34,9:65,1. Mit höheren Röntgendosen nimmt der Anteil der Anaphasen zu, er erreichte bei 4 800 r 45 %. Diese Veränderung ist deutlich von der Grösse der Röntgendosis abhängig und kann als ein guter Indikator der Bestrahlungsstärke angesehen werden.

Aus Tab. 3 geht hervor, dass die einzelnen Keimlinge sehr unterschiedlich reagieren. z.B. bei der höchsten — 4 800 r — Dosis finden wir, dass ein Drittel der Wurzelspitzen normale Zellteilungen aufweist —  $\frac{1}{3}$  hat keine Teilungen und  $\frac{1}{3}$  hat gestörte Zellteilungen. Zwar ist das Material zu klein um allgemeine Schlüsse zu ziehen, man kann aber doch annehmen, dass die gestörten Zellen, während der 14-tägigen Keimung, im Drittel des Materiales mit nur normalen Teilungen, teilweise eliminiert worden sind. Dass auch diese Keimlinge durch die Bestrahlung beschädigt wurden, geht aber einwandfrei aus ihrer Länge hervor (Bild 3).

Weiterhin schwankt der prozentuale Anteil an gestörten Zellteilungen sehr stark von Keimling zu Keimling. In der 4 800-Serie finden wir Variationen von 0—100 %. Alle diese Resultate bestätigen, was schon für das Wachstum der Keimlinge innerhalb der einzelnen Bestrahlungsserien gefunden wurde, nämlich, dass die einzelnen Samen bei Bestrahlung sehr verschieden rea-

gieren können. Teils ist die Reaktion gegen die Bestrahlungsdosis verschieden — und teils die Regenerationsfähigkeit. GELIN (1941 und auch 1953) schreibt dies dem physiologischen Zustand der Samen zu. Dieser physiologische Zustand kann in vielen Fällen direkt beeinflusst werden (z. B. Wassergehalt der Samen bei der Bestrahlung, Temperatur bei der Keimung u.a.) wodurch der Bestahlungseffekt der Röntgendosis sehr verändert werden kann.

Die Bestahlungsschäden einiger Keimlinge der 3 600 und 4 800 r-Serie waren so gross, dass die Keimlinge kaum überleben können. In diesen beiden Serien finden sich Keimlinge, deren Wurzelspitzen über 50 % gestörter Zellteilungen aufweisen. SAX und BRUMFIELD (1943) kamen zu dem Schlusssatz, dass nur wenige Pflanzen (*Vicia*) überleben, wenn 70 % der Wurzelspitzenzellen Chromosomenaberrationen aufweisen.

Die Zellteilung ist einer der wichtigsten Prozesse für Wachstum und Differenzierung der Keimlingsorgane. Die für Röntgenbestrahlung sensitiven Regionen liegen in den meristematischen Teilen der Pflanzen (GRAY und SHOLES 1951, NYBOM u.a. 1952 und READ 1959). Werden diese Gewebe einer Strahlung ausgesetzt, so entstehen Störungen bei der Zellteilung und damit Hemmungen im Wachstum — bei hohen Dosen tritt sogar Tod ein. READ zeigt, wie die Gewebe bei der Differenzierung nach Röntgenbestrahlung desorientiert werden. Die gleiche Wirkung zeigt sich auch in diesem Versuch, mit zunehmenden Chromosomenstörungen nimmt auch die Wachstumsverzögerung zu. Neben diesen Chromosomenaberrationen kann man natürlich auch mit solchen Aberrationen rechnen, die bei einer zytologischen Untersuchung nicht sichtbar werden (dominante letale Mutationen), aber dennoch negativ auf die Entwicklung der Pflanzen wirken können.

## Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Effekt einer Röntgenbestrahlung von Kiefern Samen (*Pinus silvestris* L.) auf die Entwicklung und die Zellteilungsprozesse der Keimlinge untersucht. Der Samen wurde mit 600, 1 200, 2 400, 3 600 und 4 800 r bestrahlt.

Es liess sich feststellen:

1. Mit steigender Röntgendosis *vermindert* oder *verzögert* sich gegenüber der unbestrahlten Kontrolle:
  - a. die Keimlingslänge,
  - b. der tägliche Längenzuwachs, wobei bei den bis mit 1 200 r bestrahlten Serien und der Kontrolle ein stark ausgeprägtes Zuwachsmaximum zu finden ist — während bei den höheren Serien die Zuwachskurven flach sind.

- c. das Erscheinen der Kotyledonen. Bei 4 800 r waren auch bei Abschluss des Versuches noch keine Kotyledonen sichtbar geworden.

Zwischen Kontroll- und 600 r-Serie wurden für die Momente a, b und c keine Unterschiede gefunden.

2. Mit zunehmender Röntgendosis *steigt* gegenüber der Kontrolle:
  - a. die Sterblichkeit schwacher Samen in der Keimung,
  - b. die Unregelmässigkeit im Wachstum der Keimlinge,
  - c. der Anteil der Anaphasen gegenüber den Metaphasen in den Wurzelspitzen,
  - d. die Zahl mitotischer Zellteilungsstörungen (Fragmente, Chromosomenbrücken und Micronuclei).
3. Zwischen den zytologischen und morphologischen Ergebnissen des Versuches besteht ein starker Zusammenhang. Dies ist einleuchtend, da die Zellteilungsprozesse von ausschlaggebender Bedeutung für die Entwicklung der Keimpflanze sind.

### *Literatur*

- EHRENBERG, L., 1955. The radiation induced growth inhibition in seedlings. — Bot. Not. Vol. 108.
- EHRENBERG, L., and VON WETTSTEIN, D., 1955. Radiation effects on the dry matter content in barley. — Bot. Not. Vol. 108.
- FRÖIER, K. and GUSTAFSSON, Å., 1944. The influence of seed size and hulls on X-ray susceptibility in cereals. — Hereditas, Bd. 30.
- GELIN, O., 1941. The cytological effect of different seed-treatments in X-rayed barley. — Hereditas, Bd. 27.
- 1953. Mitotische Störungsfrequenzen in röntgenbestrahlter Gerste. — Agri Hortique Genetica, XI.
- GRAY, L. H. and READ, J., 1942. The effect of ionizing radiations on the broad bean root. Part I. General Notes. — Brit. J. Radiol. Vol. XV.
- GRAY, L. H. and SCHOLES, M. E., 1951. The effect of ionizing radiations on the broad bean root. Part VIII. Growth rate studies and histological analysis. — Brit. J. Radiol. Vol. XXIV.
- GUSTAFSSON, Å., 1960. Polyploidy and mutagenesis in forest-tree breeding. — 5th World Forestry Congr., Seattle 1960, USA.
- GUSTAFSSON, Å. and SIMAK, M., 1958. Effect of X- and  $\gamma$ -rays on conifer seed. — Medd. fr. Stat. skogsforskn.-inst. Bd 48.
- MARSHAK, A., 1937. The effect of X-rays on chromosomes in mitosis. — Proc. of the Nat. Acad. of Sc. Wash., Vol. 23.
- NYBOM, N., GUSTAFSSON, Å. and EHRENBERG, L., 1952. On the injurious action of ionizing radiations in plants. — Bot. Not., 1952, H. 4.
- READ, J., 1959. Radiation biology of *Vicia faba* in relation to the general problem. — Blackwell scientific publ., Oxford.
- SAX, K., 1955. The effect of ionizing radiation on plant growth. — Amer. J. of Bot., Vol. 42.
- SAX, K. and BRUMFIELD, R. T., 1943. The relation between X-ray dosage and the frequency of chromosomal aberrations. — Amer. J. of Bot., Vol. 30.
- SIMAK, M. and GUSTAFSSON, Å., 1954. Fröbeskaffenheten hos moderträd och ympar av tall. — Medd. fr. Stat. skogsforskn.-inst. Bd 44.



## Sammanfattning

### Utveckling av fröplantor uppkomna från röntgenbestrålat tallfrö

I det framlagda arbetet har tallfrö (*Pinus silvestris* L.) röntgenbestrålats med 600, 1 200, 2 400, 3 600 och 4 800 r. Bestrålningseffekten undersöktes på fröplantornas utveckling och på mitosen i rotspetsarna.

Vi kom till följande slutsatser:

1. Med stigande röntgendos minskar eller fördröjs i jämförelse med kontrollserien:
  - a) Fröplantans längd.
  - b) Fröplantans dagliga längdtillväxt — varvid t. o. m. 1 200 r-serien, inklusive kontroll, ett tydligt tillväxtmaximum framträder. Vid högre bestrålningsserier är tillväxtkurvorna flacka.
  - c) Kotelydonernas framträdande ur fröet. Vid försökets avslutning, i serie 4 800 r, syntes inga kotyldoner.

Mellan kontroll och 600 r-serien har ingen skillnad kunnat konstateras med hänsyn till punkterna a, b och c.

2. Med stigande röntgendos ökar i jämförelse med kontrollserien:
  - a) Avgången av svaga frön under groningen.
  - b) Oregelbundenheter i fröplantans utveckling.
  - c) Anafasfrekvensen i relation till metafasfrekvensen.
  - d) Störningar i celldelningen (fragmenter, kromosombryggor och micro-nuclei).
3. Det råder ett starkt samband mellan de cytologiska och morfologiska resultaten i detta försök. Detta var också väntat då celldelningsprocessen är av avgörande betydelse för fröplantornas utveckling.

## Summary

### Growth of Pine Seedlings from X-ray Treated Seeds

The investigation reported in this paper concerns the effect of X-ray treatment of pine seeds (*Pinus silvestris* L.) on the development and cell division of germinant seedlings. The seeds were exposed to the following rates of dosages: 600 r, 1,200 r, 2,400 r, 3,600 r, and 4,800 r.

It could be concluded that:

1. In comparison with the untreated control an increase in the X-ray dosage has a *reducing* or *delaying* effect with respect to the following characteristics:
  - a. height of seedling;
  - b. diurnal height growth, exhibiting after five days for the series exposed to 1,200 r or less and for the control an obvious growth maximum—for the higher series but a weak maximum;

- c. the moment of cotyledon appearance. After a dosage of 4,800 r no cotyledons were noticeable even at the end of the experiment.

No differences were found between the control and the 600 r series with respect to the points a, b, and c.

- 2. In comparison with the control a rise in X-ray dosage has an *increasing* effect on the following characteristics:
  - a. mortality of weak seeds in the germination;
  - b. irregularity of seedling growth;
  - c. proportion of anaphase to metaphase in the root tips;
  - d. number of mitotic cell division interferences (fragments, chromosome bridges and micro nuclei).
- 3. There is a strong relationship between the cytological and the morphological traits of the material. This is natural since the process of cell division is of prime importance for the development of the germinant seedlings.